

Biosécurité, biosureté et bioterrorisme viral

Garin D

Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA), division expertise infrastructure, Brétigny sur Orge

Med Trop 2010 ; 70 : 28-32

RÉSUMÉ • La réalité de la menace constituée par l'utilisation intentionnelle des agents biologiques est discutée depuis toujours. La menace s'est aujourd'hui précisée, quittant le domaine des armes de destruction massive utilisées sur les champs de bataille vers le risque d'un usage à plus petite échelle par des terroristes. Les virus, certains d'origine tropicale, posent un problème particulier car ils possèdent le plus grand potentiel de contagion et d'adaptation à l'hôte, que le diagnostic est difficile à l'hôpital et qu'il n'existe pas de thérapeutique pour les principaux agents concernés. Pour les plus dangereux, leur manipulation nécessite des laboratoires de confinement biologique jusqu'au niveau 4 dont le mode de classification est discuté.

MOTS-CLÉS • Biosécurité. Biosureté. Bioterrorisme. Fièvre tropicale. Fièvre hémorragique.

VIRAL BIOSAFETY, BIOSECURITY, AND BIOTERRORISM

ABSTRACT • Intentional release of infectious agents has always been considered as a possible weapon. Today this risk has expanded from use for wartime mass destruction to small-scale terrorist acts. Viruses, some of tropical origin, constitute a special biological hazard for several reasons: great infectious potential, adaptability to the host, difficulty for diagnosis in the hospital, and absence of specific treatment for the main agents involved. Handling of the dangerous biological agents requires special biocontainment laboratories equipped and classified according to increasing risk up to level 4. This article discusses the modalities of classification.

KEY WORDS • Biosecurity. Biosafety. Bioterrorism. Hemorrhagic fever.

Les programmes d'armes biologiques

Les débats sur la réalité de la menace biologique sont anciens. En 1932, le responsable de la doctrine des Etats-Unis d'Amérique, le médecin général Léon A. Fox n'y croit pas du tout : « *La guerre biologique est l'une des dernières trouvailles des pseudo-scientifiques qui alimentent les pages enflammées de la presse populaire du dimanche. Il est très discutable que les agents infectieux puissent être adaptés à la guerre biologique du fait de difficultés techniques insurmontables. Aucun organisme vivant ne peut résister aux températures générées par l'explosion d'un obus militaire* ». Son homologue japonais, le Docteur Shiro Ishii, n'est absolument pas de cet avis : « *Durant toutes les guerres de l'histoire récente, il y a toujours eu plus de soldats tués par les maladies que par les armes pendant la bataille. C'est pourquoi la guerre biologique a été rendu illégale par la convention de Genève sur le désarmement de 1925. Les allégations de Fox sont fantaisistes et ne sont pas basées sur des faits scientifiques* ». Et il s'emploiera à le démontrer en développant la tristement célèbre unité 731 à Harbin en Mandchourie, un centre de recherche pour le développement d'armes biologiques où seront commises les pires atrocités sur des prisonniers de guerre et la population chinoise, avec entre autres l'utilisation du bacille pesteux sur une large échelle. Ces recherches ne resteront pas isolées : pendant la deuxième guerre mondiale, les alliés développeront aussi un programme biologique qui survivra à la fin de la guerre, jusqu'à ce qu'il soit interrompu sur décision unilatérale du président Nixon en 1969, décision qui sera à l'ori-

gine du traité de 1972 sur l'interdiction du développement, de la production et du stockage d'armes bactériologiques et de toxines, et de la nécessité de leur destruction. Au moment de son interruption, le programme américain de 726 millions de dollars aura permis officiellement la militarisation de deux agents bactériens létaux (*Bacillus anthracis* et *Francisella burnetii*), trois agents vivants incapacitants (*Brucella suis*, *Coxiella burnetii*, et le virus de l'encéphalite Equine Vénézuélienne), une toxine létale (la toxine botulinique) et une toxine incapacitante (SEB).

Malheureusement, cette convention n'empêchera pas le développement ultérieur de grands programmes étatiques interdits en ex Union Soviétique, en Irak (figures 1 et 2), en Afrique du Sud, tous pays dont l'effondrement du système politique sera lui-même



Figure 1. Cône de dispersion de bacilles de charbon destiné à un avion de combat irakien © Garin D.

• Correspondance : Daniel.Garin@wanadoo.fr



Figure 2. Têtes de scuds biologiques irakiens déterrés par l'UNSCOM (photo de l'auteur) © Garin D.

une source de prolifération, les techniciens et scientifiques de ces programmes tentant de monnayer leurs compétences dans de nouveaux pays susceptibles d'être intéressés par leur savoir (et leurs souches...).

La réalité de la menace biologique a été longtemps discutée car elle était basée sur une conception militaire d'armes utilisables en conflit traditionnel, dont les caractéristiques souhaitées étaient décrites par les critères dits « de Rosebury » (tableau 1). L'utilisation de ces armes a toujours été discutée, car elles étaient « moralement discutables », parce que leur efficacité était diluée par une action très progressive chez les agressés sans un affichage de résultats probants rapides, parce qu'elle étaient soumises à un effet boomerang (avec un risque de contamination des troupes et des populations de l'utilisateur), parce qu'elles étaient assimilées à l'utilisation d'une arme de destruction massive et donc à un risque de rétorsion avec cette gamme d'armes, parce qu'elles étaient soumises aux conditions météorologiques du champ de bataille et qu'elles restaient soumises à des difficultés techniques. Si le choix de la souche ne posait pas de problèmes majeurs, la production en grande quantité et surtout la militarisation avec des moyens de dispersion performants pré-sentaient des difficultés techniques et industrielles certaines.

Tableau 1. Critères dits de Rosebury permettant la qualification d'un agent du risque biologique militaire.

Dose infectante minimale
Efficacité d'une transmission aérienne par aérosols
Période d'incubation courte
Forte contagiosité
Absence de prophylaxie ou de thérapeutique efficaces (antibiotiques et vaccins)
Facilité de production et stabilité au stockage
Survie longue dans l'environnement (dispersion)

Bioterrorisme et virus

Toutes ces réserves sont malheureusement levées lorsque l'on envisage une utilisation terroriste, qui peut se réaliser avec des moyens de dispersion en espace clos à forte densité de population avec de petites quantités d'agents et des moyens de dispersion de type agricole par exemple. Le terroriste, suivant la définition consacrée, cherche à mener avec des organisations, des minorités ou des individus non localisables, des actions violentes préméditées, perpétrées contre des cibles non combattantes (personnes, biens, ins-



Figure 3. Exemple de containers suspects de contenir le bacille du charbon reçus par le Centre de recherche du service de santé des armées, dans la panique qui a suivi l'attaque au charbon aux Etats-Unis. Au premier plan, une caisse à pizza d'un livreur... contenant de la farine blanche... (© CEPAD).

tutions), à des fins politiques, idéologiques ou religieuses, dans l'intention de faire pression par la terreur, d'influencer l'opinion publique et par cet intermédiaire, les décideurs nationaux. Il ne craint pas les rétorsions, et peut disposer de moyens financiers considérables. Son objectif est donc de toucher la plus large population possible, pour marquer les esprits. Le récent exemple des enveloppes contaminées par le bacille du charbon aux Etats-Unis a montré les conséquences d'une action qui n'aura fait que 23 victimes (dont cinq décédées), mais dont l'impact aura été mondial. En France du fait d'un phénomène d'imitation, plus de 4000 enveloppes (non contaminées...) auront été analysées pour répondre à l'inquiétude de la population et des autorités, au point de saturer les laboratoires concernés (figure 3). Si les récentes attaques n'ont impliqué que des bactéries, se pose de plus en plus aujourd'hui la possibilité de l'utilisation des virus. Parasites obligatoires de cellules vivantes, leurs génomes de petite taille sont souvent constitués d'ARN, entraînant

Tableau 2. Liste non exhaustive des virus du risque biologique.

Virus du risque biologique	Genre viral	Niveau de sécurité requis
Virus de la fièvre de Junin	<i>Arenavirus</i>	4
Virus de la fièvre de Lassa	<i>Arenavirus</i>	4
Virus Machupo	<i>Arenavirus</i>	4
Virus Sabia	<i>Arenavirus</i>	4
Syndrome pulmonaire à Hantavirus	<i>Hantavirus</i>	4
Fièvre hémorragique de Crimée Congo	<i>Nairovirus</i>	4
Virus de la fièvre de la Vallée du Rift	<i>Phlebovirus</i>	3
Virus Ebola et Marburg	<i>Filovirus</i>	4
Virus des encéphalites à tiques	<i>Flavivirus</i>	4
Virus de la maladie de la forêt de Kyasanur	<i>Flavivirus</i>	4
Fièvre hémorragique d'Omsk	<i>Flavivirus</i>	4
Encéphalite printemps/été de Russie	<i>Flavivirus</i>	4
Virus Influenzae	<i>Orthomyxovirus</i>	2
SRAS	<i>Coronavirus</i>	3
Virus de la variole	<i>Orthopoxvirus</i>	4
Virus de l'encéphalite équine de l'Est	<i>Alphavirus</i>	3
Virus de l'encéphalite équine du Vénézuéla	<i>Alphavirus</i>	3
Virus Nipah	<i>Paramyxovirus</i>	4

la capacité de muter à très grande vitesse. Ils sont donc capables de s'adapter très rapidement à un nouvel environnement, ou à de nouveaux hôtes (franchissement de la barrière d'espèce). C'est ce qui explique qu'ils sont responsables de toutes les grandes émergences récentes : virus du Sida, Ebola, Marburg, Hendra, Nipah, SARS... Ces émergences se réalisent le plus souvent à partir de virus animaux, lors de la perturbation de biotopes ancestraux comme ceux de la forêt primaire, dans des régions où ils sont accessibles à d'éventuels terroristes. Les virus sont résistants aux antibiotiques, ils ne poussent pas sur la gélose d'une boîte de Pétri et en conséquence, il est le plus souvent difficile, pour les laboratoires de biologie médicale des hôpitaux, d'en faire le diagnostic et d'en orienter la thérapeutique, ce qui n'est absolument pas le cas pour les bactéries comme les bacilles du charbon ou de la peste. Ces virus, principalement classés dans le groupe 4 (tableau 2) sont responsables d'une très forte mortalité (95 % pour la souche Ebola Zaïre) ou d'une capacité sans égale de diffusion dans la population (potentiel pandémique par transmission respiratoire), ce qui leur confère un redoutable potentiel d'arme biologique. Plus difficile à produire et à conserver que les bactéries ou les toxines, les virus avaient rarement été retenus dans un premier temps par les grands programmes offensifs historiques. L'évolution des biotechnologies, la diffusion de ses connaissances, l'évolution de la menace d'armes de destruction massive vers le bioterrorisme, ont rendu complètement caduques ces limitations. L'ex-URSS avait militarisé un grand nombre de virus, dont celui de la variole, le virus de l'encéphalite équine vénézuélienne, le virus Marburg (proche parent du virus Ebola)... Il faut aussi rappeler que la seule utilisation volontaire d'une arme biologique à des fins de destruction massive l'a été avec un virus, le virus de la variole, par le général britannique Sir Jeffrey Amherst au détriment des populations amérindiennes favorables aux Français au milieu du XVIII^e siècle.

La classification des agents infectieux : une nécessaire évolution ?

Les définitions des agents biologiques de groupe 4 sont les suivantes :

- pour les CDC, USA, (*biosafety in microbiological and biomedical laboratories*, 2007, 5^e édition) ce sont des « Agents biologiques exotiques ou dangereux présentant un risque important de pathologie mortelle, d'une infection transmissible par aérosol au laboratoire, ou agents similaires de risque inconnu de transmission » ;

- pour l'OMS (*laboratory biosafety manual*, 2003, 2^e édition), ce sont des : « Pathogènes responsables d'une infection grave chez l'homme ou l'animal ET pouvant se transmettre facilement d'un individu à un autre, pour lesquelles des traitements efficaces et des mesures thérapeutiques ne sont pas couramment disponibles » ;

- en France (décret 94-352 du 4 mai 1994, JO n°105 du 6 mai 1994, page 6620), ce sont des « Agents biologiques qui provoquent des maladies graves chez l'homme, constituent un danger sérieux pour les travailleurs, dont le risque de propagation dans la collectivité est élevée, pour lequel il n'existe généralement aucune prophylaxie ni traitement efficace ». Un autre arrêté français (JO n°17 du 21 janvier 2004), soumet la détention et l'utilisation de certaines souches à risque d'utilisation agressive à l'autorisation de l'Afssaps ;

- pour l'Europe, la classification de ces agents est précisée par le journal officiel des communautés européennes, du 17 octo-

bre 2000 (L262/29 à 38). Il y est précisé que seule la pathogénicité chez l'homme sain est prise en compte. Cette classification est aussi amendée par l'adjonction de deux astérisques pour les pathogènes présentant « un risque d'infection limité car ils ne sont pas infectieux par l'air ».

On peut remarquer que ces critères de classification sont en fait hétérogènes : compte tenu de ces définitions et *stricto sensu*, le virus Ebola (peu diffusible dans la population) et le virus de la variole (pour lequel il existe des stocks de vaccins au moins dans les pays industrialisés) ne seraient plus des agents de classe 4 mais des agents de groupe 3. Le SARS et le virus de la grippe H1N1 1918 ne seraient plus des virus de classe 3 mais des agents de groupe 4... Il y a donc apparemment « adaptation » de la législation à des circonstances particulières nouvelles (menace de pandémie...), mais immobilisme pour les agents précédemment classés dans le groupe 4. Ce pour deux raisons principales : (a) le niveau d'entretien et de technicité d'un laboratoire de classe 4 est tel, qu'il restreint les pays capables d'en entretenir, donc le risque de diffusion des souches (aspect « sécurité internationale ») ; (b) cette situation pourrait aussi permettre aux pays riches disposant d'un laboratoire de niveau 4 de

Tableau 3. Principaux critères de qualification d'un laboratoire de niveau de confinement biologique 4.

	USA	OMS
Poste de sécurité biologique de type III ou scaphandre une pièce en pression positive	Oui	Oui
Contrôle des insectes et rongeurs	Oui	
Collection de sérums des personnels	Oui	
Douche de décontamination des scaphandres et douche personnelle	Oui	Oui
Structure clairement séparée dans un immeuble	Oui	Oui
Double compresseur d'air respirable	Oui	Oui
Réserve d'air avec alarme	Oui	Alarme seulement
Secours électrique automatique pour l'extracteur et compresseur d'air, alarmes, contrôle des sorties et poste de sécurité microbiologiques	Oui	Oui
Autoclave double entrée	Oui	Oui
Système de fumigation pour décontamination aérienne	Oui	Oui
Décontamination des effluents	Oui	Oui, à l'exception des douches personnelles
Lavabos à déclenchement automatique	Oui	
Systèmes anti-retour sur les tuyaux d'arrivée d'eau et de gaz	Oui	
Système de dépression propre au laboratoire, sans recirculation	Oui	Recirculation autorisée dans la zone scaphandre
Portes assistées sur les sas	Oui	Oui
Système d'extraction redondant	Recommandé	
Système de visualisation des dépressions à l'entrée	Oui	Oui
Double filtration HEPA à la sortie	Oui	Simple
Certification annuelle des filtres	Oui	Non
Systèmes de communication avec l'extérieur	Oui	Non
Travail à deux avec les animaux	Oui	Non
Change complet de vêtement avec douche	Oui	Oui
Contrôle par une institution de niveau national	Non	Oui



Figure 4. Exemple de scaphandres utilisés dans des laboratoires de sécurité biologique de type 4 © Garin D.

s'assurer de la prédominance des recherches conduites sur ces agents (outil de défense économique).

Il me semble nécessaire de faire évoluer les principes de classification des agents biologiques, qui ne devraient plus se contenter des simples critères « gravité » et « absence de thérapeutique » d'une maladie infectieuse. Les éléments suivants pourraient être pris en compte :

1. Le risque de transmission aérienne (protection du personnel manipulateur).
2. Le risque de diffusion rapide dans la collectivité (potentiel pandémique).
3. Le risque d'utilisation dans une optique agressive (risque terroriste).
4. Les virus susceptibles de gravement nuire aux ressources alimentaires humaines (végétales ou animales).

Les laboratoires de confinement de niveau 4 (P4, ou BSL 4, ou LSB4)

Les différents critères propres à la qualification P4 d'un laboratoire sont réunis dans le tableau 3. Il s'agit de structures étanches à double filtration d'air sortante, dont la protection des manipulateurs est assurée soit par un poste de sécurité biologique de type boîte à gants étanche, soit par des scaphandres à pression positive (Fig. 4) qui permettent le maintien de la protection même lorsque l'enveloppe étanche est perforée. Ce sont des structures coûteuses dont le prix de construction dépasse la dizaine de millions d'euros, et dont plus de 40 réalisations sont réalisées ou en projet à courte échéance dans le monde (Fig. 5). Leur nombre est en augmentation constante, associés dans un premier temps à de grandes structures gouvernementales, ces laboratoires sont de plus en plus souvent construits par des structures civiles universitaires, dont les moyens de surveillance sont souvent basés sur une police de proximité non présente sur le site. Elles posent donc un problème de biosureté car plus vulnérable à une tentative malveillante de vol de souches par exemple. Les critères de classification d'un laboratoire de haute sécurité, très simplistes dans sa numérotation de 1 à 4, devraient donc s'adapter pour prendre en compte :

1. Le niveau de protection respiratoire des manipulateurs.
2. Le niveau de protection contre les infractions du site d'implantation du laboratoire.
3. Le niveau de qualité du travail effectué (certification, accréditation...).
4. La réalisation d'infection d'animaux par production d'aérosols.



Figure 5. Localisation des principaux laboratoires de sécurité biologique de niveau de confinement 4 dans le monde. En noir le nombre de laboratoires par pays ou par zone géographique. Les deltas en verts indiquent les structures spécifiquement destinés à un usage défense.

5. La production de grandes quantités de virus par culture cellulaire.

En effet le risque d'échappement d'un virus n'est pas tant dans la rupture de son confinement, que par le risque d'infection d'un personnel qui, une fois sorti du laboratoire, contaminerait son environnement immédiat.

Conclusion

Les virus des fièvres hémorragiques ou respiratoires posent un problème particulier. Bien qu'ils soient cantonnés à des zones tropicales, ils sont susceptibles de contaminer les populations, de diffuser sous forme pandémique du fait de leur transmission respiratoire ou par piqûres d'arthropodes, d'être utilisés par des terroristes du fait de leur transmission aérienne et du caractère spectaculaire des pathologies induites.

Il faut insister sur le fait que si le risque d'apparition d'une pandémie ou d'une attaque virale bioterroriste est faible, nos capacités de réponses sont pratiquement inexistantes. Dans le cas des bactéries, peste ou charbons, nous disposons dans tous les hôpitaux de capacités diagnostiques (les bactéries sont identifiables par tout laboratoire par leurs caractéristiques biochimiques), de capacités d'évaluation thérapeutique (antibiogrammes) et de protocoles thé-

rapeutiques (antibiotiques). L'utilisation de toxines n'aura qu'un impact immédiat (premier cercle de personnes touchées) sans risque de diffusion dans la population, et les options thérapeutiques sont déjà connues même si elles ne sont pas toujours disponibles (immunothérapie antituberculose). Rien de tout cela n'existe pour les virus. Leur nombre, leur biodiversité, une barrière d'espèce des plus perméables, leur donnent une capacité considérable de propagation dans l'espèce humaine. S'il est compréhensible qu'ils ne soient pas considérés comme des priorités de recherche médicale civile quand ils ne constituent pas des problèmes de santé publique majeurs, il est important que la communauté scientifique puisse s'organiser pour apporter des éléments de réponse adaptés, au moins en assurant une veille scientifique qui la rende capable de réagir au plus vite à une nouvelle émergence. ■

POUR EN SAVOIR PLUS

- Alibek K, Handelmann S. La guerre des germes. Presse de la cité ed, Paris, 2000, 444 p.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health Fifth Edition, Feb 2007 US Government Printing Office Washington.
- Laboratory biosafety manual. Third edition. World Health Organization Geneva ed, 2004.

Quoi de neuf sur le Web ?

La vaccination est un outil de prévention efficace vis-à-vis de nombreuses maladies transmissibles du voyageur. Elle représente un temps fort de toute consultation de conseils aux voyageurs au cours de laquelle le praticien possède une double mission : mettre à jour les vaccinations prévues par le calendrier vaccinal annuel national et envisager les vaccinations spécifiques utiles au voyageur (prescription individualisée). En raison de l'évolution des données épidémiologiques et des avancées de la vaccinologie, celui-ci peut s'appuyer sur les recommandations sanitaires du Comité des maladies liées aux voyages et des maladies d'importation (CMVI) mises à jour chaque année et publiées dans le Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire (www.invs.sante.fr/beh). Sous la tutelle du professeur Jean-Louis Koeck, médecin biologiste de l'Hôpital d'Instruction

des Armées Robert Picqué (Bordeaux), un site web animé par des experts en vaccinologie vient de voir le jour en octobre 2009. Ce site dénommé MesVaccins.net s'est fixé comme objectif de faciliter l'application des recommandations vaccinales tout en privilégiant une prescription adaptée au profil du voyage et du voyageur (âge, comorbidités, profession). Ce site indépendant, gratuit pour les étudiants, est accessible aux professionnels de santé moyennant une contribution modique. Grâce à un moteur d'intelligence artificielle, les données individuelles du voyageur nécessaires à l'élaboration des recommandations vaccinales sont recueillies à l'aide d'un formulaire de saisie. La validation de ce formulaire est associée à l'édition d'un tableau synthétique de propositions vaccinales suivi de messages d'alerte, de justification et de textes de référence. Ce logiciel, bientôt

compatible avec certains logiciels de gestion de cabinet médical, propose également un carnet de santé électronique avec rappel par courriel, une veille d'actualités, une base documentaire en vaccinologie et une aide à la localisation du Centre de Vaccination International (CVI) le plus proche.

Le site <http://www.mesvaccins.net> offre en somme la possibilité, dans le cadre de la consultation de conseils aux voyageurs, de préparer en ligne sa consultation spécialisée en complétant un questionnaire. Actualisé en temps réel par de nombreux experts, ce site, devrait s'enrichir rapidement de nouvelles fonctionnalités (prophylaxie du paludisme). Sa simplicité d'emploi ainsi que sa richesse répondent parfaitement aux besoins des nombreux acteurs de la médecine des voyages. Il est également accessible au grand public.

Rapp C